

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОСНОВНОГО ВЕЩЕСТВА В СУБСТАНЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ЛИЗОМУСТИН

В.П.Краснов, Н.В.Авдюкова, Л.Б.Ради́на, Г.Л.Левит, Т.И.Клочкова, О.Н.Чупахин*

Институт органического синтеза УрО РАН

620219, Екатеринбург, ГСП-147, ул. С.Ковалевской, 20

E-mail: ca@ios.uran.ru

** Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН*

115478, Москва, Каширское ш., 24

Поступила в редакцию 24 апреля 2001 г.

Предложена методика спектрофотометрического определения содержания основного вещества в субстанции противоопухолевого препарата лизомустин, основанная на хромофорных свойствах нитрозо-группы, в длинноволновом диапазоне УФ спектра при максимуме поглощения 396 нм.

Краснов Виктор Павлович - доктор химических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией химии аминокислот Института органического синтеза УрО РАН.

Область научных интересов: синтез и исследование физиологически активных соединений, стереохимия.

Автор более 150 печатных работ.

Авдюкова Неля Васильевна - кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории химии аминокислот Института органического синтеза УрО РАН.

Область научных интересов: анализ и исследование физиологически активных соединений.

Автор более 20 печатных работ.

Ради́на Лия Борисовна - кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института органического синтеза УрО РАН.

Область научных интересов: анализ и исследование физиологически активных соединений.

Автор более 40 печатных работ.

Левит Галина Львовна - кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии аминокислот Института органического синтеза УрО РАН.

Область научных интересов: синтез и исследование физиологически активных соединений.

Автор более 30 печатных работ.

Клочкова Татьяна Ивановна - кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник Российского онкологического центра им. Н.Н.Блохина РАМН.

Область научных интересов: фармацевтический анализ, синтез лекарственных соединений.

Автор более 20 печатных работ.

Чупахин Олег Николаевич - доктор химических наук, профессор, академик РАН, директор Института органического синтеза УрО РАН.

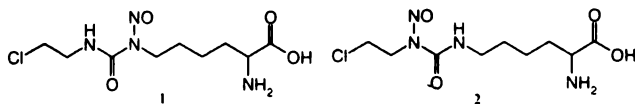
Область научных интересов: теоретическая органическая химия, синтез и исследование физиологически активных соединений.

Автор более 400 печатных работ, 10 монографий

Новый оригинальный противоопухолевый препарат лизомустин [1] разработан в Институте органического синтеза УрО РАН совместно с Российским онкологическим научным центром им.Н.Н.Блохина РАМН. Фармакологический государственный комитет Министерства здравоохранения РФ разрешил препарат для медицин-

ского применения в качестве противоопухолевого средства (протокол № 6 от 10 июня 1999 г.) и рекомендовал его промышленный выпуск. Лизомустин относится к классу нитрозоалкилмочевин. Субстанция препарата представляет собой смесь

изомеров положения нитрозо-группы: 9-(2-хлор-этил)-7-нитрозо-L-гомоцитруллина (1) и 9-(2-хлор-этил)-9-нитрозо-L-гомоцитрул-лина (2), определенного состава [2].



Лизомустин представляет собой многофункциональное производное аминокислоты, содержащее в своем составе амино- и карбоксильную группу, легко гидролизуемый атом хлора, хромофорную нитрозо-группу. Все это делает возможным использовать для количественного определения различные методы: спектрофотометрический, полярографический, газобъемный, а также титрование амино- и карбоксильной групп или ионов хлора.

Однако, поскольку вещество является химически нестабильным, особенно в водных растворах, большое значение имеет время пробоподготовки. В результате сравнения нами установлено, что наиболее простым, быстрым и удобным из перечисленных методов является спектрофотометрический метод, основанный на хромофорных свойствах нитрозо-группы. Электронный спектр субстанции имеет две полосы поглощения: одну, интенсивную, с максимумом поглощения вблизи 230 нм и другую, меньшей интенсивности, с максимумом около 396 нм. Обе эти полосы можно использовать для количественного определения лизомустина. Коротковолновая полоса значительно интенсивнее, что обеспечивает высокую чувствительность метода, но ее использование для количественного анализа сопряжено с большей возможностью случайных и систематических ошибок, так как многие органические соединения (в том числе и возможные примеси в лизомустине) поглощают в этой области спектра. Этого недостатка лишен длинноволновый диапазон УФ спектра, где расположена вторая полоса поглощения лизомустина. Кроме того, меньшая интенсивность этой полосы позволяет использовать для измерения более концентрированные растворы и готовить их прямым растворением достаточно большой массы вещества (около 0.06 г) в мерной колбе, тогда как для измерения оптической плотности растворов лизомустина в области 230 нм приходится либо брать малые навески препарата (около 0.01 г), либо прибегать к разбавлению первоначально приготовленного раствора, что увеличивает погрешность измерений. Нами для количественного определения лизомустина выбран максимум поглощения ли-

зомустина при 396 нм.

Экспериментальная часть

Точную навеску мелко растертой субстанции препарата (около 0.065 г) растворяли в дистиллированной воде в мерной колбе объемом 50 мл. Раствор фотометрировали на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 396 нм в кювете толщиной 1 см относительно кюветы с водой. Время между началом приготовления раствора и его фотометрированием не должно превышать 30 мин. По шкале спектрофотометра замеряли коэффициент пропускания раствора (Т, %), вычисляли оптическую плотность (D) и содержание препарата (X, %) по формулам:

$$D = -\lg \frac{T}{100} \quad \text{и} \quad X = \frac{D \cdot V \cdot M}{\epsilon \cdot l \cdot m} \cdot 100\% .$$

где V - объем раствора препарата, л;

M - 280.71 (молекулярная масса лизомустина, г-моль);

ϵ - 83.7 (молярный коэффициент поглощения лизомустина при длине волны 396 нм);

l - толщина кюветы, см;

m - навеска препарата, г.

Среднее значение X находят не менее чем из трех определений.

Обсуждение результатов

Было установлено соблюдение закона Бугера в длинноволновой области УФ спектра для водных растворов, содержащих 0.04-0.08 г лизомустина в 50 мл. Для определения молярного показателя поглощения ϵ лизомустина в качестве эталонного образца был выбран образец субстанции лизомустина, хроматографически однородный, содержащий 25.0 % изомера (2) и минимальное количество примесей с общим содержанием 0.3% (0.08 % ионов хлора, 0.1 % воды, сульфатная зола менее 0.1 %) [2]. Значение $\epsilon = 83.7$ было использовано для расчета содержания лизомустина в исследуемых образцах. Доверительный интервал определения молярного показателя поглощения ϵ с доверительной вероятностью 95% составляет ± 0.19 .

Нами показано, что чистые индивидуальные изомеры 1 и 2 лизомустина, полученные по методу [3], несколько различаются по величине молярного показателя поглощения в максимуме 396 нм (табл. 1). Однако колебания изомерного состава лизомустина, допускаемые ФСП [2] (содержание изомера 2 от 23.0 до 26.0 %), изменяют величину ϵ лизомустина только в пределах его доверительного интервала (± 0.2).

Таблица 1

Молярные показатели поглощения ϵ при различных длинах волн индивидуальных изомеров 1 и 2

Изомеры	Концентрация $0,92 \cdot 10^{-4}$ моль/л		Концентрация $0,46 \cdot 10^{-2}$ моль/л
	230 нм	254 нм	396 нм
1	5740	4610	78,8
2	5780	4050	86,1

В таблице 2 представлены результаты определения содержания основного вещества в 6 сериях субстанции препарата лизомустин, полученной в соответствии с технологическим регламентом на производство препарат. Относительная погрешность среднего результата определения содержания лизомустина не превышает 0,2%. Содержание основного вещества в субстанции препарата составляет не менее 98,00 %, что соответствует требованиям Фармакопейной статьи [2].

Таблица 2

Результаты определения содержания основного вещества в субстанции лизомустина ($P=0.95$)

Образец, № серии	Содержание основного вещества, %	Относительная погрешность, %	n
7360397	98,69	0,19	5
7311296	98,89	0,12	5
7050395	98,16	0,09	4
7250496	98,27	0,13	3
7360800	98,69	0,12	5
7400800	99,00	0,10	6
7460301	99,17	0,14	5

Выводы

Разработана методика спектрофотометрического определения содержания основного веще-

ства в субстанции нового противоопухолевого препарата лизомустин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пат. 1834006 РФ. Противоопухолевое средство/ Н.М.Перетолчина, Л.Б.Радина, Л.Б.Горбачева и др. Приоритет 1988.Заявл. 21.07.1994 // Открытия. Изобретения. 1996. № 30.
2. Стандарт качества лекарственного средства. Фармакопейная статья предприятия 42-0120029100. МЗ РФ, 2000. 10 с.
3. Nw-Алкилнитрозокарбамоил-а,w-диаминокарбоновые кислоты, III. Синтез и противо-опухолевая активность Ne-нитрозо-Ne-[N'-(2-хлорэтил)карбамоил]-L-лизина и Ne-[N'-(2-хлорэтил)-N'-нитрозокарбамоил]-L-лизина / Г.Л.Левит, В.П.Краснов, Л.Б.Радина и др. // Хим.-фармац. журнал. 1996. № 5. С.23-25.

* * * * *